Aus der Universitäts-Frauenklinik Tübingen

Direktor: Professor Dr. med. Hans Roemer

Bestimmung von Zellkernkörperchen in fetalen und erwachsenen Ovarien

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von

SIEGLINDE MERKLE

aus Stuttgart

1964

8039

Aus der Universitäts-Frauenklinik Tübingen

Direktor: Professor Dr. med. Hans Roemer

Bestimmung von Zellkernkörperchen in fetalen und erwachsenen Ovarien

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von

SIEGLINDE MERKLE

aus Stuttgart

1964

Dekan: Professor Dr. med. H. HARMS

1. Berichterstatter: Professor Dr. med. H. -J. SPECHTER

2. Berichterstatter: Professor Dr. med. H. RÖEMER

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Fotodruck PRÄZIS · Tübingen

INHALTSÜBERSICHT

	Seite
EINLEITUNG	1
GRUNDLAGEN MIT EINER ÜBERSICHT ÜBER DAS SCHRIFTTUM	2
EIGENE UNTERSUCHUNGEN	8
I. Material	
a) Allgemeines	8
b) Fixierung	9
c) Einbettung	10
d) Färbung	10
II. Methodik	
a) Differenzierung	11
b) Auswertung	12
III. Ergebnisse	
A. Fetale Ovarien	14
B. Ovarien von Erwachsenen	16
C. Männliches Genitale	17
D. Zahlenmäßige Veränderung der Barrschen Kernkörper im Alter	18
DISKUSSION	21
ZUSAMMENFASSUNG	23
LITERATURVERZEICHNIS	24

EINLEITUNG

Wenngleich seit der Entdeckung der zellkernmorphologischen Geschlechtsbestimmung nahezu 20 Jahre vergangen sind, so bieten sich doch immer wieder neue Gesichtspunkte, unter denen die geschlechtlichen Unterschiede der Kernstruktur betrachtet werden können.

Seit Smith 1944 (48) auf Geschlechtsunterschiede bei Insekten hingewiesen hatte und Barr und Bertram 1949 (3) anläßlich von Untersuchungen am Nervus hypoglossus der Katze entdeckten, daß bei weiblichen Tieren die Mehrzahl der Zellkerne nahe dem Nucleolus einen kleinen Chromatinkörper besitzen, fand die zellkernmorphologische Geschlechtsbestimmung auf mehreren Gebieten der Medizin viele Anwendungsmöglichkeiten. So vor allem in der Intersexualitätsforschung, der pränatalen Geschlechtsvorhersage und der Tumorforschung.

Gerade auf dem letztgenannten Gebiet erhielt man durch die Erkennung von "weiblichen" und "männlichen" Tumoren wertvolle Hinweise für die Hormontherapie. Es werden aber nicht nur dem zellkernmorphologischen Geschlecht nach "weibliche und männliche" Tumoren unterschieden, sondern es stellte sich auch heraus, daß Ovarialtumoren, die ein "männliches" Zellgeschlecht aufwiesen, in ihrer Prognose besonders bösartig waren (39, 6). Das führte nun zu der Annahme, daß - auf Grund der bisexuellen Anlage der menschlichen Keimdrüse - im Laufe der geschlechtlichen Differenzierung in den Ovarien andersgeschlechtliche Zellnester zurückbleiben, die wie jedes andere Gewebe die Fähigkeit besitzen, im späteren Leben zu entarten und zwar bösartig zu entarten.

GRUNDLAGEN MIT EINER ÜBERSICHT ÜBER DAS SCHRIFTTUM

Klinger (28), Grumbach und Barr (22) und Hienz (25) geben vollständige Übersichten über die bisher erschienene Literatur. Es seien hier nur kurz die verschiedenen Untersuchungsmethoden in historischer Reihenfolge gebracht.

1953 wurde durch Moore, Barr, Graham (34) das zellkernmorphologische Geschlecht mit Hilfe des sogenannten Haut-Tests ermittelt; 1955 (37) der Mundschleimhautabstrich eingeführt. Diese Methode wird auch heute noch am häufigsten zur Geschlechtsbestimmung gebraucht. Danach wurden Vaginal- und Urethralabstriche vorgeschlagen (11, 12, 13). Diese Arten der Geschlechtsbestimmung konnten sich jedoch nicht durchsetzen. Aus abgeschilferten fetalen Zellen der Amnionflüssigkeit stellten 1955 Serr, Sachs und Danon (47) eine pränatale Geschlechtsdiagnose. 1954 fand dann Davidson und Smith (14) morphologische Geschlechtsunterschiede an polymorphkernigen neutrophilen Leukocyten. Zunächst glaubte man, daß diese Kernanhängsel, Trommelschlegel genannt, mit dem Barrschen Sexchromatin identisch seien. 1957 fand jedoch Ashley (1) in Leukocyten sowohl Trommelschlegel als auch Sexchromatin. Es konnte sich also nicht um homologe Gebilde handeln. Damit wurde die Frage aufgeworfen, woraus das Barrsche Chromatinkörperchen bestehe.

Barr hatte ihm ursprünglich wegen seiner Lage in der Nähe des Nucleolus den Namen "Nucleolus-Satellit" gegeben. Nachdem er aber erkannt hatte, daß die typische Lage die an der Innenseite der Zellkernmembran ist, ging er zu der Bezeichnung "Geschlechtschromatin" über (5). Er sah im Geschlechtschromatin die morphologische Manifestierung einer Zusammenballung der heterochromatischen Anteile der beiden X-Chromosomen bei weiblichen Individuen. Bei männlichen Individuen trete das eine X nicht in Erscheinung. Seine Annahme, daß das Geschlechtschromatin von den Chromosomen abstamme, sah er dadurch bestärkt, daß es sich bei der Feulgen-Färbung anfärbte. Er betrachtete es deshalb als primäres Geschlechtsmerkmal.

Overzier (42) leitet das Geschlechtschromatin ebenfalls von den Chromosomen ab. Er deutet sein Erscheinen folgendermaßen: Bei der Befruchtung wird das Geschlecht festgelegt. Zwei X-Chromosomen lassen einen Chromatinkörper erwarten, jedes weitere X einen weiteren Chromatinkörper. Er meint, die Frau habe vielleicht nicht gleichwertige X-Eier, die sich beliebig mit einem X- oder Y-Spermium verbinden, sondern X-Eier mit der Bereitschaft, sich nur mit

einem X-Spermium befruchten zu lassen und andere X-Eier, die nur ein Y-Spermium aufnehmen. Nur die ersteren hätten die Fähigkeit, Chromatin zu bilden. Nimmt man dann an, daß nur das von der Mutter stammende X ein Geschlechtschromatin bilden kann, dann wäre es verständlich, warum normale Frauen (XX) einfach chromatin-positiv sind, normale Männer (XY) aber chromatin-negativ; unter der Annahme, daß Y-Spermien aufnehmende Eier kein Chromatin bilden. Ebenso hält Bassermann (7) das Geschlechtschromatin für chromosomalen Ursprungs.

Park (43) fand das Sexchromatin schon bei menschlichen Embryonen von ca. 16 Tagen, also vor der Gonadendifferenzierung. Deshalb sah er im Sexchromatin ein primäres Geschlechtsmerkmal. Hienz (23) dagegen hält es für ein tertiäres Geschlechtsmerkmal. Er sagt darüber: "Tertiäre Geschlechtsmerkmale weisen zwar Geschlechtsbezogenheit auf, ihre Deutung ist aber schwer und höchstens aus der geschlechtsunterschiedlichen Gesamtkonstitution der Individuen möglich. Sie sind morphologischer, physiologischer, besonders stoffwechselphysiologischer Art". Er vertritt die Ansicht, daß das Geschlechtschromatin Ausdruck des Stoffwechsels der Zelle ist. Dazu hat ihn die Tatsache veranlaßt, daß in manchen Geweben der Prozentsatz an Chromatinkörperchen sehr gering ist, obwohl doch jede Zelle den selben Chromosomensatz hat. Er verwendet deshalb auch nicht wie Barr die Bezeichnung "chromosomale Geschlechtsbestimmung" sondern "zellkernmorphologische Geschlechtsbestimmung". Außerdem schlägt er den Namen "Barrscher Zellkernkörper" vor, an Stelle der durch Barr eingeführten Bezeichnung "Geschlechtschromatin" (24). Wir haben uns der Therminologie von Hienz angeschlossen.

In charakteristischen Fällen liegt das Barrsche Zellkernkörperchen an der Innenseite der Zellkernmembran und ist von anderen Chromatinbröckeln durch seine scharfen Konturen unterscheidbar. Es ist 1 - 1,5μ breit und 1,5 - 2μ lang. Man unterscheidet 5 verschiedene Formen (9), und zwar die "klassische Form" in der oben angegebenen Größe, die Dreiecksform, die Mikro- und Makroform und die Längsform. Die klassische und die Dreiecksform sollen mehr bei weiblichen Individuen vorkommen, die Makro- und Längsform mehr bei männlichen. Die Mikroform soll bei beiden Geschlechtern gleich häufig sein. Manche Autoren zählen auch solche Chromatinkörper, die im Kerninnern liegen. Sie erhalten dann entsprechend höhere Prozentzahlen. Wir halten uns bei der Auszählung streng an die typischen randständigen Formen. Die in der Literatur genannten Zahlen weisen zwar große Schwankungen auf. Sämtliche Untersucher finden jedoch einen deutlichen Unterschied zwischen männlichen und weiblichen Individuen. Ferner finden sich von Ge-

websart zu Gewebsart prozentuale Unterschiede, während im einzelnen Gewebe die Zahl der Barrschen Zellkernkörper konstant ist. Hienz (25) fand zum Beispiel folgende Zahlenwerte:

	♀	♂
Epidermis	25 - 35 %	0 - 3 %
Mamma- und Prostata-Ca	14 - 30 %	0 - 2,5 %
Leydigsche Zwischenzellen (Klinefeltersyndrom)	20 - 30 %	0 %

An Feten konnte Glenister (19) bei einer Länge von 18 - 155 mm das zellkernmorphologische Geschlecht entsprechend den Gonaden feststellen. Bei noch kleineren Embryonen stellte er das Geschlecht fest, obwohl die Gonaden noch nicht differenziert waren. Witchi (55) stellte bei 2,4 und 3,7 mm langen menschlichen Embryonen eine Geschlechtsdiagnose. Glenister (19) wies an Syncytiotrophoblasten einer implantierten Blastula Barrsche Zellkernkörper nach. Auch andere Autoren konnten lange vor der Gonadendifferenzierung an embryonalem Gewebe Barrsche Zellkernkörperchen nachweisen. "Danach wären die Geschlechtsunterschiede in den Körperzellen schon vor der geschlechtlichen Differenzierung der Keimdrüsenanlagen, das heißt schon zum Zeitpunkt der Befruchtung festgelegt. Das zellkernmorphologische Geschlecht wäre also dem genetischen gleichzusetzen" (Hienz). Das genetische Geschlecht ist aber als primäres Geschlechtsmerkmal definiert. Es besteht in den Ausführungen von Hienz also insofern ein Widerspruch, als er zuvor im "Geschlechtschromatin" ein Stoffwechselproblem der Zelle sah (siehe oben), und es deshalb zu den tertiären Geschlechtsmerkmalen zählte. Für die Tatsache, daß es sich um ein primäres Geschlechtsmerkmal handelt, spricht die Unabhängigkeit der Barrschen Zellkernkörper von hormonellen Einflüssen. Moore und Barr (35) beobachteten an einem kastrierten Hund noch nach Jahren denselben Prozentsatz an Barrschen Zellkernkörpern wie vor der Kastration.

Da man bei den Trommelschlegeln der Leukocyten eine Abhängigkeit von Alter, Krankheiten, hormonellen Verschiebungen wie etwa bei der Menstruation gefunden hatte, wurden auch entsprechende Untersuchungen zur Klärung der Konstanz der Barrschen Zellkernkörper unternommen. Lennox (31) fand keine Abhängigkeit vom Alter des Individuums. Sutter (50) konnte ebenfalls keine Veränderung der Zahl der Barrschen Zellkernkörper im Laufe des Lebens feststellen; ganz im Gegensatz zu den Trommelschlegeln, die im Alter immer mehr abnehmen (54). Ebenso fand Sutter auch keine Abhängigkeit vom Cyklus, während Caratzali (10) in der 2. Cyclushälfte einen Anstieg der Trommel-

schlegel um fast 50 Prozent sah. Die Auswertung der Barrschen Zellkernkörperchen erlaubt also eine sicherere Geschlechtsdiagnose als der Leukocytentest. Die einzige Beschreibung mit gegenteiligen Ergebnissen fand ich bei Moore (38). Er stellte an Mundschleimhautabstrichen von Feten eine gegenseitige Beeinflussung von Mutter und Fet fest. Dabei wiesen eindeutig männliche Individuen kurz nach der Geburt eine weibliche Chromatinverteilung auf.

Zellkernmorphologische Untersuchungen an Tumoren wurden vor allem von Hunter und Lennox (27) und von Hienz (25) durchgeführt. Die meisten der von ihnen untersuchten Tumoren stimmten im Kerngeschlecht mit dem des Tumorträgers überein; jedoch fanden sich bösartige, undifferenzierte Tumoren, bei denen man bei der Zählung der Barrschen Zellkernkörper auf Schwierigkeiten stieß. Bei Tumoren des Mannes trifft man ganz selten hohe Prozentzahlen (51), während bei solchen von Frauen häufiger die Diagnose "chromatin-negativ" gestellt wird. Moretti (39) fand bei entdifferenzierten malignen Ovarialgeschwülsten das Barrsche Zellkernkörperchen weniger häufig als bei gutartigen und solchen mit hoher Differenzierung. Bartelheimer (6) definierte von 160 primären Ovarialkarzinomen 30 als "männlich". Bei diesen 30 Tumoren waren die meisten schon inoperabel. Außerdem waren die Patientinnen fast alle jenseits der Menopause. Esche (18) und Kimmich (30) untersuchten Corpus- und Collumkarzinome. Sie fanden nur weiblich determinierte Tumoren.

Zunächst bestand nun die Neigung, aus diesen Befunden Intersexformen von Tumoren abzuleiten. Lennox (32) widerlegte jedoch die Anschauung, daß Tumoren einen andersgeschlechtlichen Ursprung haben könnten. Er gab folgende Erklärungen für die Anomalien der Chromatinstruktur in Tumorgewebe:

1. Zellen in schnellwachsenden Tumoren gehen schnell zugrunde. An Kernen, die kurz vor der Pyknose stehen, läßt sich aber das Barrsche Zellkernkörperchen nicht mehr auszählen.

2. In rasch wachsenden Tumoren folgen die Mitosen rasch aufeinander. Kurz vor und nach der Mitose stellt sich das Chromatinkörperchen schlecht dar.

3. Tumorzellen besitzen große Zellkerne. Je größer der Kern jedoch ist, desto geringer ist die Wahrscheinlichkeit, daß er in jedem Schnitt ganz getroffen wird.

4. Die wichtigste Ursache aber sind Chromosomenanomalien. Atkin (2)

stellte Chromosomenzählungen und DNS-Messungen an und fand bei Tumoren gegenüber normalem Gewebe einen etwa um 10 Prozent höheren DNS-Gehalt je Chromosom.

Auch Overzier (42) ist nicht der Meinung, daß es sich bei widersprüchlichen Chromatinbefunden von Mammakarzinomen bei Frauen um andersgeschlechtliche Gewebe handle, denn dann müßte auch ein chromatin-positiver Brustkrebs beim Manne zu finden sein. Dies ist ihm jedoch nicht gelungen.

Eine Ausnahme machen die Teratome und Chorionepitheliome. Bei Frauen scheinen Teratome immer weiblich zu sein, während bei Männern etwa die Hälfte weiblich ist. Es wird angenommen, daß Teratome entweder durch Verschmelzung haploider Zellpaare oder durch Verdoppelung von Chromosomen entstehen. Einige uterine Chorionepitheliome sind männlich, was ihren fetalen Ursprung zu bestätigen scheint (32). Ein von Lennox ausgewerteter Hiluszelltumor des Ovars war "weiblich", mehrere Disgerminome des Ovars jedoch ohne Barrsche Zellkernkörper.

Gerade im Ovar des Menschen wäre es nicht erstaunlich, zellkernmorphologisch "männliche" Tumoren zu finden. Im Laufe der Entwicklung von der indifferenten Gonade zur geschlechtsspezifischen Keimdrüse wird immer zuerst die männliche Richtung eingeschlagen (53), auch bei solchen Individuen, die bei der Befruchtung weiblich bestimmt wurden. In histologischen Schnitten beobachtet man deshalb die Anlage des Hodens immer vor der des Ovars. Verständlicherweise enthalten dadurch beide Organe homologe Strukturen von denen unter normalen Bedingungen im späteren Leben nur die geschlechtsspezifischen zur vollen Entfaltung kommen. Leicht können aber auch die andersgeschlechtlichen bestehen bleiben und auch mitwachsen. So entwickelt sich die weibliche Keimdrüse hauptsächlich aus der Rinde, die männliche aus der Marksubstanz der Keimdrüsenanlage. Als Entwicklungsstörung kann man den Ovotestis auffassen. Bei einigen Tieren kommt er unter normalen Bedingungen vor. Dabei liegt einem hodenähnlichen Gebilde eine Zone von Ovarialgewebe kappenartig auf. Wenn auch am Anfang der Entwicklung der Bauplan des Ovars dem des Hodens ähnelt, so sind die Geschlechtszellen trotzallem vom Zeitpunkt der Befruchtung an als Eizellen bestimmt.

Wenn überhaupt, dann wäre es im Ovar möglich, daß sich bestimmte männliche Strukturen schon vor dem Überhandnehmen der weiblich bestimmenden Faktoren so weit entwickeln, daß sie sich nicht mehr umwandeln. Infolge der

fehlenden, für sie spezifischen, männlichen Stimulierung blieben sie liegen und würden von den nun proliferierenden weiblichen Geweben überwuchert. Durch irgendwelche unbekannten äußeren oder inneren Anlässe könnte ihr Wachstum angeregt werden und zu besonders bösartigen Tumoren führen. Wenn es solche "männlichen Strukturen" gibt, so müßte man sie nicht nur im Ovotestis sondern auch im normalen Ovar nachweisen können.

Aufgabe dieser Arbeit war es deshalb, in einer ersten Serie mit Hilfe der zellkernmorphologischen Geschlechtsbestimmung verschiedene Gewebe fetaler Ovarien zu untersuchen und miteinander zu vergleichen. Außerdem habe ich in den selben fetalen Ovarien nach Hiluszwischenzellen gefahndet; sodann ihr Vorhandensein mit den Ergebnissen der Geschlechtsbestimmung der verschiedenen Ovarialgeweben in Beziehung gesetzt.

Um einen Vergleich zu haben, ob sich die Zahl der Barrschen Kernkörperchen im Alter verändert, untersuchte ich in einer zweiten Serie Ovarien von Erwachsenen verschiedener Altersstufen.

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

I. MATERIAL

a) Allgemeines

Die Ovarien der ersten Serie stammen zum Teil von Aborten zum Teil von Totgeburten bzw. Frühgeburten, die kurz nach der Geburt starben. Die Ovarien der Abortfrüchte präparierte das histologische Labor der Frauenklinik, während mir die Ovarien der älteren Feten und Totgeburten freundlicherweise das Pathologische Institut überließ.

Der jüngste, mir zur Verfügung stehende Fet, war - nach der letzten Periode der Mutter zu schließen - 3 Monate alt. Da bis zum Ende des 3. Monats (49) eine Geschlechtsdiagnose nach dem makroskopischen Aspekt des äußeren Genitale noch nicht möglich ist, stellten sich die Gonaden unterm Mikroskop als Hoden heraus, so daß dieser junge Fet nicht ausgewertet werden konnte.

Die beiden nächsten Feten hatten ein Alter von 4 und 5 Monaten; sie waren 15 bzw. 21 cm lang. Die Länge des Embryos berechnet sich vom 1. bis 4. Monat, indem man die Zahl der Monate ins Quadrat setzt. Vom 5. bis 10. Monat soll die Zahl der Monate mit 5 multipliziert werden (21). Nach Grosser beträgt die wahre Länge des Embryos im 1. Monat aber nur wenige mm, mit den Eihüllen zusammen wird die Frucht 1 cm groß. Auch in den folgenden Monaten wird dann wohl die wahre Länge des Embryos etwas kleiner sein als die obige Regel angibt. Die von mir untersuchten Feten waren fast durchwegs kleiner. Makroskopisch boten beide Fälle etwa dasselbe Bild: Längliche Ovarien, die an der seitlichen Beckenwand medial der Müllerschen Gänge liegen. Letztere hatten sich schon vereint und bildeten den Uterus.

Zwei der folgenden Feten waren 6 Monate alt, 3 waren 7 Monate alt, 5 waren 8 Monate alt, 3 waren 9 Monate alt und 5 hatten ein Alter von 10 Monaten. Weibliche Embryonen aus den ersten Schwangerschaftsmonaten zu bekommen, bereitet erhebliche Schwierigkeiten. Einmal geht bei Aborten bis zum 3. Monat die Frucht oft zu Hause ab; zum anderen wird ab 3., 4. Monat das Geschlechtsverhältnis von Knaben zu Mädchen immer kleiner, bis es bei der Geburt noch 1,06 beträgt (20). Das bedeutet bei einem primären Geschlechtsverhältnis von 1,46 unmittelbar nach der Befruchtung (44), daß mehr Knaben absterben müssen, um von der Zahl 1,46 zu 1,06 zu gelangen. Die Ovarien von sämtlichen Feten erscheinen in Tabelle IV (S.19) als Gruppe I.

Die zweite Serie bilden 30 Ovarien von Erwachsenen. Nach dem Alter werden 3 Gruppen unterschieden, die in Tabelle IV die Gruppe II 20 - 40 Jahre, Gruppe III 40 - 50 Jahre und Gruppe IV 50 - 72 Jahre bilden. Die Ovarien stammen aus dem laufend anfallenden Operationsmaterial der Klinik und zwar aus den Monaten Juni bis Oktober 63. In Gruppe II findet sich Excisionsmaterial vom gesunden Ovar bei Tubargravidität, Stein-Leventhal-Syndrom, einer Parovarialcyste, einem Adeno-Ca des Ovars. Das Material der Gruppe III und IV wurde vorwiegend bei Totaloperationen wegen Uterus myomatosus oder Adenomen im Bereich der Genitalorgane gewonnen.

Um einen Vergleich zu haben, untersuchte ich außerdem ein männliches Genitale mit kryptorchem infantilem Hoden.

b) Fixierung

Da sich die Zahl der Barrschen Zellkernkörperchen nach dem Tode mit zunehmender Fäulnis verändert (15), erfolgte die Fixierung der Ovarien unmittelbar nach deren Exstirpation. Hienz (25) fand jedoch in Leichen nach 3 Tagen bis zu 1 Woche nach dem Tode keine Veränderung der Zahl der Barrschen Kernkörperchen gegenüber dem von Lebenden gewonnenen Material. Holzer und Marburger (26) konnten sogar noch nach 1,5 Monaten das zellkernmorphologische Geschlecht bei Lawinenleichen nachweisen. Aus eigener Erfahrung kann gesagt werden, daß in einem Fall ein Teil des Ovars grün verfärbt war, also schon in Fäulnis übergegangen war. Mikroskopisch waren in diesem Teil die Strukturen kaum noch zu erkennen. Im benachbarten, nichtautolytischen Ovarialgewebe wichen aber die Barrschen Kernkörper zahlenmäßig nicht von anderen Ovarien ab. Sind im Falle von schon eingetretener Fäulnis die Zellen chromatin-positiv, so kann zwar die Diagnose "weiblich" gestellt werden, nicht aber im umgekehrten Falle die Diagnose "männlich", da mit zunehmender Fäulnis die Barrschen Kernkörperchen verschwinden.

Barr (4) gab zur Fixierung modifizierte Davidsonsche Lösung an (20 Teile Formol, 30 Teile 95%iger Alkohol, 10 Teile Eisessig, 30 Teile Aqua dest.). Overzier (41) empfiehlt Stievsche Mischung (76 Teile Sublimat, 20 Teile Formalin, 4 Teile Eisessig). Für mein Material erwies sich die Fixierung mit Formalin als durchaus zureichend, da das Gewebe gut zu schneiden und auszuwerten war. Das Gewebe blieb mindestens 24 Stunden in der Fixierlösung.

c) Einbetten

	3,5	Std.	70%iger Alkohol	
	1,5	Std.	96%iger Alkohol	
			in Mull einpacken	
2 mal	1	Std.	100%iger Alkohol	
2 mal	1	Std.	Benzol	} Brutschrank
	1	Std.	weiches Paraffin	} Brutschrank
über Nacht			hartes Paraffin	} Brutschrank

Ausbetten mittels halbweichen Paraffins.

Von den auf Holzklötzen aufgeklebten Paraffinblöcken werden 6 µ dicke Schnitte angefertigt. Barr gab die Schnittdicke mit 5 µ an. Bei zu dicken Schnitten kommt es zu Überlagerung der Strukturen, bei zu dünnen Schnitten sind zu wenig Barrsche Kernkörperchen angeschnitten, so daß sich die Prozentzahlen verringern. Deshalb ist es wichtig, daß bei einer Untersuchungsreihe die Schnittdicke konstant bleibt (Hienz). Die Objektträger kann man zur Befestigung der Schnitte mit einer Schicht Eiweißglycerin einreiben. Über Nacht läßt man die Schnitte im Wärmschrank trocknen und entparaffiniert sie sodann über Xylol (10 Min.) in einer absteigenden Alkoholreihe (100%ig, 96%ig, 70%ig, jeweils 5 Min.).

d) Färbung

Ursprünglich wurde mit Haematoxylin-Eosin gefärbt (36,4). Klinger und Ludwig (29) erhielten die besten Ergebnisse mit der Methode nach Feulgen und mit der Thioninfärbung. Hienz (25) verwendet routinemäßig die PAS (periodic-acid-Schiff-reaction) oder PJS (Perjodsäure-Schiff-Reaktion). Zur Gegenfärbung der Kerne verwendet er P. Mayers Haemalaun. Bei dieser Färbung sollen die Barrschen Kernkörperchen blau-schwarz werden und eine schillernde Farbe annehmen. Marburger, Boccella und Nelson (33) färbten beim Mundepitheltest nach der modifizierten Feulgen-Methode bei Gegenfärbung mit Lichtgrün. Diese Färbemethode kam auch bei den folgenden Untersuchungen zur Anwendung. Sie wird folgendermaßen ausgeführt:

Kurz aqua. dest.
10 Min. Hydrolyse in 1n HCl bei 55°C
kurz aqua. dest.
30 - 50 Min. Schiffsches Reagens
kurz aqua. dest.
2 Min. SO_2-Wasser (10 cm^3 Na-bisulfit,
10 cm^3 0,1n HCl ad 200 cm^3 aqua. dest.)

10 Min. Leitungswasser
20" - 40" Lichtgrün 1%ig
kurz aqua. dest.

70%iger Alkohol
96%iger Alkohol
100%iger Alkohol
5 Min. Xylol

Nach der Färbung deckt man die Schnitte mit Eukitt ein.

II. METHODIK

a) Differenzierung

Die meisten Autoren zählen 100 - 200 Zellen. Hienz (25) zählte zum Teil sogar 500 Kerne. Er machte die Beobachtung, daß die Häufigkeit der Barrschen Zellkernkörperchen in den einzelnen Teilen des Schnittes sehr differieren kann. Auch in den vorliegenden Präparaten fanden sich Gegenden, in denen die Zellkerne keine Chromatinkörper aufwiesen, während in anderen Teilen mehrere beieinander lagen. Deshalb wurde bei der Auszählung mehrmals das Gesichtsfeld gewechselt. Zunächst zählte ich in jedem Schnitt 100 Zellen, sodann, unabhängig davon, noch einmal bei allen Präparaten 50 Zellen. Da bei diesem Vorgehen die Ergebnisse nicht oder kaum differierten, kamen bei der Endzählung je 50 Kerne zur Auswertung. Auch Bergemann (8) hat die Erfahrung gemacht, daß 50 Zellen je Schnitt genügen. Bei der Aus-

wertung verwendete ich Ölimersion mit 800-facher Vergrößerung. Die meisten Autoren geben stärkere Vergrößerungen an, jedoch erscheint mir die Beurteilung bei einer geringeren Vergrößerung günstiger, da die Konturen schärfer dargestellt sind (was im Hinblick auf die randständigen Chromatinkörper nicht unwichtig ist); auch ermüdet das Auge nicht so schnell.

Die Bedingungen bei der Auszählung der beiden Untersuchungsserien waren die gleichen, das heißt, gleiche Schnittdicke, gleiche Färbung, gleiche Vergrößerung. Die endgültige Zählung erfolgte in kurzer Folge an 2 - 3 Tagen hintereinander. Zur Auswertung kamen nur solche Chromatinkörper, die scharf und deutlich konturiert waren und beim Verstellen der Mikrometerschraube in mindestens einer Ebene randständig lagen. Besonders große und ganz kleine Chromatinbröckel schloß ich von der Zählung aus.

Zur Einarbeitung in die Methode der Zählung der Barrschen Zellkernkörperchen zählte ich Schnitte von mehreren Appendices vermiculares.. Das Ergebnis kontrollierten erfahrene Untersucher. So wird mit einiger Sicherheit die Auszählung erlernt.

b) Auswertung der Schnitte

In sämtlichen fetalen Ovarien kamen zunächst die Zellen der Rindenregion zur Auszählung. Die ursprüngliche Absicht, in Granulosa- und Stromazellen zu unterscheiden, war wegen der verschiedenen Entwicklungsstadien nicht konsequent durchzuführen. Zwar waren in den älteren Ovarien zahlreiche Primärfollikel zu sehen, doch hatten deren Granulosazellen spindelige, dünne Kerne und lagen überdies so dicht, daß einzelne Kerne nicht mit Sicherheit ausgezählt werden konnten. Deshalb wurden die Zellen des Ovarialstromas ausgezählt. Bei den jüngeren Ovarien fanden sich in der Rindenregion Stromazellen und sogenannte Prägranulosazellen, die sich im Laufe der Entwicklung um die Oogonien legen und zu Follikelzellen werden (40). Da sie sich am Anfang morphologisch wenig von einander unterscheiden, kamen bei der Zählung beide Zellarten zur Auswertung.

In Blindzählung erfolgte sodann die Zählung der Bindegewebszellen der Hilusregion.

Zur besseren Darstellung der einzelnen Gewebe im Ovar wurden in einem weiteren Arbeitsgang sämtliche Ovarien mit HE gefärbt. In diesen Schnitten suchte

ich sodann nach Hiluszwischenzellen. Diese liegen nach Watzka (52) meist in Beziehung zu marklosen Nervenfasern. Da bei vorhandenen Zwischenzellen jeweils nur wenige Zellkerne angeschnitten waren, konnten diese nicht ausgezählt, sondern lediglich das Auftreten von Hiluszwischenzellen mit der Zahl der Barrschen Zellkernkörperchen in den übrigen Ovarialgeweben verglichen werden.

Interessiert hat weiter die Zahl der Barrschen Zellkernkörperchen der Eizellen. Die Zählung der letzteren war allerdings dadurch sehr erschwert, zum Teil auch unmöglich, da die meisten Eizellen der Primärfollikel nekrotisch waren. Dies kann einmal seine Ursache in der schnelleren postmortalen Umwandlung rascher proliferierender Gewebe haben. Eine andere Erklärung bringt die von Pinkerton u.a. (46) festgestellte Tatsache, daß von der 28. Schwangerschaftswoche an die Follikelentwicklung von einer Degeneration der Ovocyten abgelöst wird. Dabei bleiben die Granulosazellen länger bestehen. Das führt zu dem Bilde zahlreicher leerer Follikelhüllen. Dies traf auch in den vorliegenden Schnitten vielfach zu. Als Folge davon sinkt die Zahl der Primärfollikel von der 36. Schwangerschaftswoche an bis zur Pubertät langsam ab; parallel dazu vermehrt sich das Bindegewebe.

Bei allen erwachsenen Ovarien kamen die Zellkerne des gesunden Stromas zur Auszählung. Daß nur gesundes Gewebe ausgezählt wird, ist besonders zu beachten, da bekanntlich die Zellkerne von malignen Tumoren häufig ein anderes Zellgeschlecht aufweisen.

Als nächstes wurden die Granulosazellen der erwachsenen Ovarien ausgezählt. Das war nur bei den noch funktionstüchtigen Ovarien möglich. Fanden sich in einzelnen Schnitten nur ältere Bläschenfollikel oder atresierende Primärfollikel, so wertete ich diese nicht aus, da das Chromatingerüst solcher Zellen wohl keine gültigen Aussagen mehr erlaubt.

Um zu prüfen, ob die Zahl der Barrschen Kernkörper vom Alter abhängig ist, erfolgte die Unterteilung sämtlicher Ovarien in 4 Gruppen (siehe S. 9). Die Prozentzahlen der 4 Zahlenfolgen wurden durch Auszählen der Stromazellen gewonnen. Aus den so erhaltenen Werten berechnete ich den Mittelwert, und die Standardabweichung s, da eine Zahlenfolge als umso konstanter angesehen werden kann, je weniger die Einzelwerte vom Mittelwert abweichen, das heißt, je kleiner die Standardabweichung s ist.

Der Mittelwert errechnet sich nach der Formel

$$\bar{x} = \frac{\Sigma x}{N}$$

und die Standardabweichung nach der Formel

$$s = \sqrt{\frac{\Sigma (\bar{x} - x)^2}{N - 1}}$$

Dabei bedeutet $\bar{x}$ = Mittelwert
x = Einzelwert
N = Häufigkeit der Einzelwerte

Aus Documenta Geigy, Wissenschaftliche Tabellen
6. Auflage, 1960, s. 32 - 35

III. ERGEBNISSE

Die Grundlage folgender Ergebnisse bilden 50 ausgewertete Schnitte von 20 fetalen Ovarien und 30 Ovarien von Erwachsenen.

A. Fetale Ovarien

1. Rindenregion

Von den 20 Ovarien liegen die Prozentzahlen der Barrschen Zellkernkörper bei 16 zwischen 20 und 30 Prozent. Nur 4 der Fälle zeigen Abweichungen nach unten. Es besteht keine Abhängigkeit vom Alter. Auch die 4 abweichenden Fälle weisen in Bezug auf Alter und Todesursache keine Besonderheiten auf.

2. Hilusgebiet

Die Zellkerne des Bindegewebes im Hilusgebiet dagegen zeigen in 11 Fällen Prozentzahlen zwischen 10 und 20. Nur 9 der Fälle liegen zwischen 20 und 28 Prozent.

3. Hiluszwischenzellen

Nach Hiluszwischenzellen suchte ich in 18 Ovarien. Bei 2 Fällen war der Hilus nicht vollständig angeschnitten. Sie kamen deshalb nicht zur Auswertung.

Von den 18 Ovarien finden sich bei 11 einige wenige Zwischenzellen. Diese liegen jeweils mit Nervenfasern vergesellschaftet. Sie sind dadurch leicht zu erkennen. Auch durch ihre kreisrunden Zellkerne unterscheiden sie sich vom übrigen Bindegewebe. Bei 7 Fällen sind solche Zellgruppen nicht vorhanden.

4. Eizellen

Von den ausgezählten Eizellen erwähne ich nur die Zahlen von 8 Ovarien, da bei den restlichen die Eizellen zu nekrotisch sind. Entweder sind sie überhaupt nicht zählbar, oder es ergeben sich so niedere Prozentzahlen an Barrschen Zellkernkörperchen, daß diese Zahlenwerte mit solchen anderer Gewebsregionen nicht in Vergleich gesetzt werden können. Bei 7 von 8 gezählten Präparaten zeigt sich, daß die Prozentzahlen der Eizellen gleich hoch oder nur wenige Prozent unter denen der Stromazellen der Rindenregion liegen. Bei einem der Ovarien, dessen Zellen der Rindenregion nur 12 Prozent Barrsche Kernkörper ergeben, weisen die Eizellen dagegen wesentlich mehr auf, nämlich 20 Prozent.

Tab. I Fetale Ovarien:

Vergleich der Prozentzahlen von Stroma- und Eizellen

Nr.	Alter in Monaten	Rinde %	Eizellen %
2124	4	26	22
1898	5	30	30
S	7	16	14
635	8	24	24
616	9	20	18
208	9	22	22
244	9	20	20
676	10	12	20
Mittelwert		21,25 %	21,25 %

Tab. II Fetale Ovarien

Prozentsatz der Barrschen Zellkernkörperchen

Nr.	Alter in Monaten	Rinde %	Hilus %	Differenz %	Hiluszellen
2124	4	26	20	6	-
1898	5	30	26	4	+
269	6	22	16	6	-
653	6 - 7	24	16	8	+
417	7	24	18	6	+
S	7	16	10	6	-
263	7	22	10	12	-
635	8	24	24	0	o
651	8	28	22	6	+
711	8	28	24	4	+
291	8	10	10	0	-
279	8 - 9	18	12	6	+
616	9	20	20	0	-
707	9	24	18	6	-
208	9	22	22	0	+
636	10	24	22	2	+
676	10	12	12	0	+
675	10	30	28	2	+
244	10	20	16	4	+
253	10	24	18	6	o
Mittelwert		22,4 %	18,2 %	4,2 %	

B. Ovarien von Erwachsenen

1. Stromazellen

Bei den 3 Alterstypen ergeben sich in der Gruppe von 20 - 40 Jahren 2mal 28 Prozent, 2mal 24 Prozent, 18 und 16 Prozent. Die Gruppe von 41 - 50 Jahre zeigt 9 Werte zwischen 20 und 30 Prozent, 2 mit 16 Prozent. Die letzte Gruppe besteht aus 12 Patientinnen im Alter von 51 - 72 Jahren. 7 davon weisen Werte zwischen 20 und 30 Prozent auf; 5 Werte liegen zwischen 12 und 18 Prozent.

2. Granulosazellen

Die Granulosazellen werden nur in 14 Ovarien ausgezählt, aus den oben genannten Gründen. Die Werte liegen zwischen 14 und 30 Prozent und zwar in 11 Fällen höher als die der Stromazellen.

Tab. III. Ovarien von Erwachsenen:

Vergleich der Prozentzahlen von Stroma- und Granulosazellen

Nr.	Alter in Jahren	Stromaz. %	Granulosaz. %
1231	23	24	18
1434	25	24	26
1474	27	28	14
1291	39	28	30
1545	42	16	30
1272	43	30	24
1116	45	16	18
1510	47	20	24
1136	50	28	30
1494	51	30	26
1093	52	16	20
1034	55	16	22
1540	56	16	20
1094	68	24	26
Mittelwert		22,58 %	23,43 %

C. Männliches Genitale

Bei diesem Genitale lautet die mikroskopische Diagnose: Infantiler Hoden mit Tubulosklerose, Hypertrophie der Leydigschen Zwischenzellen bei mangelhafter Differenzierung des Samenepithels.

Ausgezählt werden die Kerne der Leydigschen Zwischenzellen. Es ergibt sich

ein Wert von 6 Prozent Barrscher Zellkernkörper. Damit ist der Beweis dafür geliefert, daß die zellkernmorphologische Geschlechtsdiagnose bei sämtlichen Ovarien "weiblich", also chromatin-positiv lautet.

D. Zahlenmäßige Veränderung der Barrschen Kernkörper im Alter

Wie schon dargelegt, kann die Abweichung der Einzelwerte vom Mittelwert als ein Maß der Konstanz einer Zahlenfolge angesehen werden. Vergleicht man nun die Prozentzahlen der 4 Altersgruppen, so liegen die Zahlenwerte alle bei einer gewissen Höhe, die durch die Mittelwerte der einzelnen Gruppen wiedergegeben wird. Die Einzelwerte weichen von diesen Mittelwerten zwar ab, halten sich jedoch alle in einer verhältnismäßig geringen Schwankungsbreite. Diese Schwankungsbreite s beträgt in Gruppe I bei einem Mittelwert von 22,4 Prozent ± 5,35 %. Alle Einzelwerte der Gruppe I, die zwischen 17,05 und 27,75 Prozent liegen, können somit als konstant betrachtet werden. Aus Tab. IV ist zu ersehen, daß in Gruppe I 60 Prozent der Einzelwerte innerhalb dieses Bereiches liegen. In Gruppe II beträgt der Mittelwert 23,00 Prozent, die Schwankungsbreite ± 5,02 %. Es liegen 83,34 Prozent der Einzelwerte innerhalb des Bereiches von 17,98 - 28,02 Prozent. In Gruppe III liegt der Mittelwert bei 23,64 Prozent, bei einer Schwankungsbreite von ± 4,95 %. Hier liegen 63,70 Prozent der Einzelwerte innerhalb des Bereiches von 18,69 - 28,59 Prozent. In Gruppe IV beträgt der Mittelwert 20,50 Prozent, die Schwankungsbreite ± 5,20 %. Von den Einzelwerten liegen 75 Prozent innerhalb des Bereiches von 15,30 - 25,70 Prozent.

Tab. IV Zahlenmäßige Konstanz der Barrschen Zellkernkörper
(Die mit + gekennzeichneten Patientinnen haben bis zum Zeitpunkt der Operation regelmäßig menstruiert.)

Gruppe I		Gruppe II		Gruppe III		Gruppe IV	
Alter in Monaten	%	Alter in Jahren	%	Alter in Jahren	%	Alter in Jahren	%
4	26	23 +	16	42 +	16	51	30
5	30	23 +	24	43 +	30	52 +	12
6	22	25	24	43 +	22	52 +	16
6 - 7	24	27 +	28	43 +	26	53 +	20
7	24	39 +	28	45 +	16	55	24
7	16	40 +	18	47 +	20	55	16
7	22			49 +	22	56	16
8	24			50 +	24	60	26
8	28			50	26	62	24
8	28			50 +	28	63	20
8	10			50	30	68	24
8 - 9	18					72	18
9	20						
9	24						
9	22						
10	24						
10	12						
10	30						
10	20						
10	24						
Mittelwert	22,40		23,00		23,64		20,50
s ±	5,35		± 5,02		± 4,95		± 5,20
innerhalb M ± s liegen	60,00		83,34		63,70		75,00

Sämtliche Einzelwerte liegen jedoch innerhalb der doppelten (2 s) Standardabweichungen der 4 Gruppen.

Da nun die Mittelwerte der 4 Altersstufen etwa auf dem selben Niveau liegen, kann gesagt werden, daß die fetalen Zellen gleich viel Barrsche Kernkörperchen besitzen wie die Zellen von Erwachsenen. Außerdem nimmt die Zahl der Barrschen Kernkörperchen im Klimakterium nicht ab, ist also unabhängig von hormonellen Einflüssen.

DISKUSSION

Zunächst soll die zahlenmäßige Konstanz der Barrschen Kernkörper betrachtet werden. Die Schwankungsbreite liegt in allen 4 Gruppen zwischen 16 und 30 Prozent (Tab. IV). Nur in Gruppe I und IV liegen einige wenige Werte bei 10 und 12 Prozent. Da die Anamnese der Patientin aus Gruppe IV keine Hinweise auf eventuelle funktionelle Minderwertigkeiten gibt, ist anzunehmen, daß technische Mängel oder postmortale Veränderungen das Barrsche Kernkörperchen weniger häufig in Erscheinung treten lassen. Ebenso konnten bei den beiden Feten aus Gruppe I keine Fehlentwicklungen entdeckt werden. Auch zeigte die Schwangerschaftsanamnese der Mutter nichts auffälliges.

In Gruppe I hat besonders interessiert, ob sich im Laufe der Tragzeit die Zahl der Barrschen Kernkörper vermehrt. Wie aus Tabelle IV ersichtlich ist, läßt sich jedoch im Prozentsatz der Zahl der Barrschen Zellkernkörper weder eine Zunahme noch eine Abnahme im Laufe der Embryonalzeit feststellen. Da auch kein zahlenmäßiger Unterschied zu den erwachsenen Ovarien auftritt, kann mit Lennox und Sutter festgestellt werden, daß die Zahl der Barrschen Zellkernkörper von der frühesten Embryonalentwicklung bis ins hohe Alter konstant bleibt. Bereitet sein Auffinden in sehr jungen Embryonen Schwierigkeiten, so muß berücksichtigt werden, daß embryonales Gewebe ebenso wie Tumorgewebe eine sehr hohe Wachstumsrate besitzt. Lennox's Aussagen über Chromatinanomalien bei Tumoren haben also auch in diesem Falle Gültigkeit. Bei allen von mir untersuchten Ovarien stimmt in jedem Falle das zellkernmorphologische Geschlecht mit der geschlechtsspezifischen Struktur des Organs überein.

Schwieriger zu deuten sind die Ergebnisse, die man beim Vergleich der einzelnen Gewebe im Ovar erhält. Die Untersuchungen erfolgen auf Grund der entwicklungsgeschichtlichen Tatsache, daß sich die weibliche Keimdrüse am Anfang morphologisch indifferent verhält, und daß dann bei weiblich determinierten Individuen die Rinde stark zu hypertrophieren beginnt, während das Mark rudimentär bleibt. Das letztgenannte trägt im embryonalen Ovar noch Kennzeichen einer Hodenanlage (52). Deshalb kamen in Blindzählung die Bindegewebszellen der Hilusregion zur Auszählung. Dabei ergibt sich (Tab. II), daß in 3/4 der Fälle die Zellen des Hilus weniger Barrsche Zellkernkörper besitzen als die Zellen der Rindenregion. Im Durchschnitt 4,2 Prozent weniger. Dieser Wert hat aber in Anbetracht der großen Schwankungsbreite innerhalb der einzelnen Gewebe im Ovar keine große Aussagekraft.

Versucht man nun das Auftreten von Hiluszwischenzellen in Beziehung zu setzen mit der Differenz zwischen den Prozentzahlen in Rinde und Hilus, so wird die Annahme, das Auftreten zahlreicher Hiluszellen sei vergesellschaftet mit einer geringen Prozentzahl Barrscher Zellkernkörper der Bindegewebszellen im Hilus, nicht bestätigt. Dies hätte erwartet werden können nach dem Eindruck, den Dhom (16) gewann, daß in "minderwertigen Eierstöcken" die Hiluszwischenzellen vermehrt seien. Vielmehr erhält man nach Tabelle II den Eindruck, daß bei Fehlen der Hiluszellen die Differenz zwischen Rinde und Mark relativ groß ist.

Regelrechte Hiluszelltumoren sind in meinen Schnitten nicht zu finden. Beim Vergleich der Prozentzahlen der Eizellen mit denen der Stromazellen (fetale Ovarien, Tab. I) und der Prozentzahlen der Granulosazellen mit den Zahlenwerten der Stromazellen (Ovarien von Erwachsenen, Tab. III) ergeben sich keine signifikanten Unterschiede. Es ist an sich anzunehmen, daß die Eizellen mit ihren Granulosazellen häufiger ein Barrsches Zellkernkörperchen aufweisen als andere Gewebe im weiblichen Organismus; sind doch die Eizellen die am deutlichsten determinierten Zellen des weiblichen Organismus. Da die Oocyten der fetalen Ovarien jedoch zu den schnell proliferierenden Zellen gehören, ist bei ihrer Beurteilung bezüglich des Chromatingerüsts Vorsicht geboten, da solche Zellen nach dem Tode rasch regressiven Veränderungen anheim fallen. Auch die Beurteilung der Granulosazellen der Ovarien von Erwachsenen stößt auf Schwierigkeiten, weil sich mit zunehmendem Alter immer weniger intakte Follikel finden. Während die Eizellen rasch verschwinden, bleiben die Granulosazellen noch längere Zeit sichtbar. Es erscheint jedoch fragwürdig, ob sie dann noch ein vollwertiges Chromatingerüst besitzen.

Mit Hilfe der Zählung der Barrschen Zellkernkörper konnte nach dem oben gesagten kein wesentlicher Unterschied zwischen den einzelnen Geweben im Ovar festgestellt werden. Ein Nachweis andersgeschlechtlicher Gewebe konnte nicht erbracht werden.

ZUSAMMENFASSUNG

Zellkernmorphologische Untersuchungen verschiedener Autoren an Ovarialtumoren ergaben, daß einige Tumoren "chromatin-negativ", das heißt zellkernmorphologisch "männlich" waren. Diese "chromatin-negativen" Ovarialtumoren zeichneten sich alle durch besondere Malignität aus. Als weiteres fiel auf, daß diese Tumoren im Gegensatz zu den "chromatin-positiven", also "weiblichen" Tumoren, auf Gaben von männlichem Geschlechtshormon nicht günstig reagierten und schnell zu einer Verschlechterung führten. Es ergibt sich nun die Frage, ob man im Ovar primär "andersgeschlechtliche" Zellen findet, aus denen sich ein solches Neoplasma entwickeln könnte. Zur Klärung dieser Frage wurden in 20 fetalen Ovarien mit Hilfe der zellkernmorphologischen Geschlechtsbestimmung die verschiedenen Gewebsanteile untersucht.

Dabei konnte kein wesentlicher Unterschied in der Prozentzah der Barrschen Kernkörperchen zwischen den Zellen des Hilusbindegewebes und den Zellen der Rindenregion festgestellt werden. Die Hiluszwischenzellen sind nicht vermehrt, auch wenn in den Bindegewebszellen des Hilus die Zahl der Barrschen Zellkernkörperchen gering ist.

Es findet sich also in den Ovarien der 20 untersuchten Feten kein andersgeschlechtliches Gewebe.

Um zu prüfen, ob in Abhängigkeit vom Alter eine Verschiebung der Zahl der Barrschen Zellkernkörper eintritt, wurden 30 Ovarien von Erwachsenen untersucht. Zusammen mit den fetalen Ovarien werden 4 Altersstufen unterschieden. In diesen 4 Gruppen finden sich Mittelwerte, die nur gering variieren.

Daraus kann der Schluß gezogen werden, daß eine zahlenmäßige Änderung der Barrschen Zellkernkörper gegen Ende der Schwangerschaft und im Laufe des Lebens nicht auftritt.

LITERATURVERZEICHNIS

1 Ashley, D.J.B. : Occurence of sex chromatin in the cells of the blood and bone marrox in man. Nature (London) 179, 969 (1957)

2 Atkin, N.B. : General considerations on the chromosomes of human tumours. Acta Unio internat.cancr., Bruxelles 14, 41 (1960)

3 Barr, M.L. and E.B. Bertram : Amorphological distinction between neurons of the male and female, and the behaviour of the nucleolar satellite during accelerated nucleoprotein synthesis. Nature 163, 676 (1949)

4 Barr, M.L. : The sex chromatin and its application to errors in sex development. In modern trends in obstetrics and gynecology. London 1955. Butterworth. Chapter 7, 117

5 Barr, M.L. : Cytological test of sex. Lancet 1956 I, 47.

6 Bartelheimer, A. : Geschlechtschromatin und Ovarialcarcinom Dissertation Tübingen (1961).

7 Bassermann, F.J. : Zahl und Größe der geschlechtsspezifischen Chromatindifferenzierungen in polyploiden und endomitotisch verdoppelten Kernen der Flimmerzellen des menschlichen Bronchialepithels. Ärztl. Wschr. 1957, 307.

8 Bergemann, E. : Geschlechtschromatinbestimmungen am Neugeborenen. Schweiz.med.Wschr. 91, 292-294 (1961)

9 Bohle, A. und Hienz, H.A. : Zellkernmorphologische Geschlechtsbestimmung an der Placenta. Klin.Wschr. 1956, 981.

10 Caratzali, A. Phleps, A. et Turpin, R. : Variations quantitatives des corpuscules sexuels des granulocytes neutrophiles au cours du cycle menstruel. Bull.méd., Paris 141, 496-501 (1957).

11 Carpentier, P.J., L.A.M. Stolte and G.P. Visschers : Sexing nuclei. Lancet. 1955 II, 874.

12 Carpentier, P.J., L.A.M. Stolte and G.P. Visschers : Gepaling von het genetische geslacht met gehulp van hat vaginale uitstrijkpreparaat. Mederl. tijdschr. v. geneest. 100, 154 (1956)

13 Carpentier, P.J., L.A.M. Stolte and G.P. Visschers : Determination of genetic sex by the vaginal smear. J. Clin. Endocrinol. 16, 155 (1956).

14 Davidson, W.M., and D.R. Smith : A morphological sex difference in the polymorphnuclear neutrophil leukocytes. Brit. med. J. 1954 II, 6.

15 Dixon, A.D. and J.B.D. Torr : Post mortem persistence of sex chromatin. J. forensic Med. 3, 161 (1956).

16 Dhom G. : Morphologische, quantitative und histochemische Studien zur Funktion der Hiluszellen des Ovars. Z. Geburtsh. 142, 182-228, 289-313 (1954/55).

17 Ehlers, P.N. und H.A. Hienz : Zellkernmorphologisches Geschlecht und hormonelle Beeinflußbarkeit des Mamma-Carcinoms. Langenbeck's Arch. klin. Chir. 288, 485 (1958).

18 Esche, U. : Dissertation, Tübingen. (1962).

19 Glenister, T.W. : Determination of sex in early human embryos. Nature 177, 1135 (1956).

20 Graunt, J. : Natural and political observations - made upon the bills of mortality. 1. Aufl. London 1661, deutsche Übersetzung Leipzig 1702.

21 Grosser, O. : Grundriss der Entwicklungsgeschichte des Menschen 1959.

22 Grumbach, M.M. und Barr, M.L. : Cytologic tests of chromosomal sex in relation to sexual anomalies in man. Recent Progr. Hormone Res. 14, 255-334 (1958).

23 Hienz, H.A. : Zellkernmorphologische Geschlechtserkennung bei Säugetier und Mensch. Dtsch. Med. Wschr. 82, 1986-1991, (1957).

24 Hienz, H.A. : Untersuchungen zum pränatalen Geschlechtsverhältnis des Menschen auf Grund der zellkernmorphologischen Geschlechtserkennung und unter besonderer Berücksichtigung der Kriegs- und Nachkriegszeiten. Naturw. Math. Inaug. Diss., Heidelberg, (1958).

25 Hienz, H.A. : Die Zellkernmorphologische Geschlechtserkennung in Theorie und Praxis; in Theorie und Klinik der Medizin, Vo. 10 (1959).

26 Holzer, F.J. und E. Marberger : Zur mikroskopischen Geschlechtsbestimmung an Leichenteilen. Dtsch. Z. ger. Med. 46, 242 (1957).

27 Hunter, W.F. and Lennox, B. : The sex of teratomata. Lancet II, 633 (1954).

28 Klinger, H.P. : The sex chromatin in fetal and maternal portions of the human placenta. Acta anat. 30, 371-397 (1957).

29 Klinger, H.P. and K.S. Ludwig : A universal stain for the sex chromatin body. Stain Technol. 32, 235 (1957).

30 Kimmich : Dissertation, Tübingen, im Druck.

31 Lennox, B. : Nuclear sexing: a revieu incorporating some personal observations. Scot.med.J. 1956, I, 67.

32 Lennox, B. : Das Kerngeschlecht der Tumoren in C. Overziers "Die Intersexualität". Thieme Stuttgart 1961, 463 - 476.

33 Marberger, E., R.A. Boccabella and W.O. Nelson : Oral smear as a method of chromosomal sex detection. Proc.Soc.Exper.Biol. 89, 488 (1955).

34 Moore, K.L., M.A. Graham and M.L. Barr : The detection of chromosomal sex in hermaphrodites from a skin biopsy. Surg.Gynec.Obstet. 96, 641 (1953).

35 Moore, K.L. and Barr M.L. : Morphology of the nerve cell nucleus in mammals, with special reference to the sex chromatin. J.Comp.Neurol. 98, 213-231 (1953).

36 Moore, K.L. and M.L. Barr : Nuclear morphology, according to sex in human tissues. Acta anat. (Basel) 21, 197 (1954).

37 Moore, K.L. and M.L. Barr : Smears from the oral mucosa in the detection of chromosomal sex. Lancet 1955 II, 57.

38 Moore, K.L. : Lancet 1959/I 217-219.

39 Moretti, J. : Das Geschlechtschromatin in Ovarialtumoren (Univ.Pavia). Tumori 45, 13-28 (1959).

40 Oehler, I.E. : Beitrag zur Kenntnis des Ovarialepithels und seiner Beziehungen zur Oogenese. Acta anat. Basel 12, 1 (1951).

41 Overzier, C. : Diagnostische Maßnahmen bei Verdacht auf Intersexualität. Medizinische 1958, 587.

42 Overzier, C. : Über die Bedeutung und Beweiskraft der Kerngeschlechtsdiagnostik.
Klin.Wschr. 39, 557-563 (1961).

43 Park, W.W. : The occurence of sex chromatin in early human and macaque embryos.
J.Anat., Lond. 91, 369-373 (1957).

44 Pfaundler, M.V. : Studien über Frühtod, Geschlechtsverhältnis und Selektion.
I. Mitteilung: Zur intrauterinen Absterbeordnung.
57, 195 (1936).

45 Pieper, U. und Oehme, J. : Die Abhängigkeit geschlechtsgebundener Leukocytenmerkmale bei Feten und Frühgeborenen von der Reife.
Klin.Wschr. 34, 1067-1068 (1956).

46 Pinkerton, J.H.M., Mckay, D.G., Adams, E.C. and Hertig, A.T. : Development of the human ovary - a study using histochemical technics.
Obstetrics and Gyn. Vol 18 No 2, 152-181, (1961).

47 Serr, M.D., L. Sachs and M. Danon : The diagnosis of sex before birth using cells from the amniotic fluid.
Bull.Res.Counc.Israel 5 B, 137 (1955).

48 Smith, St.G. : The diagnosis of sex by means of heteropycnosis.
Mc.Gill med.J. 13, 451 (1944).

49 Stark, D. : Embryologie, Stuttgart 1955 Thieme.

50 Sutter, L.A. : Über das Geschlechtschromatin des Mundhöhlenepithels unter Berücksichtigung von Lebensalter und Menstruationssyclus.
(Anat.Inst.Uni.Basel) Acta anat. (Basel) 43, 214 - 218 (1960)

51 Tavares, A.S. : Nuclear "sex" in undifferentiated-cell carcinomata.
J.Path.Bact., 74, 25 (1957).

52 Watzka, M. : Das Ovarium. in Handb. der Mikroskop.Anatomie des Menschen von Möllendorff und Bargmann.
7.Band Harn- und Geschlechtsorgane 3.Teil
Springerverlag 1957.

53 Watzka, M. : Normale Entwicklungsgeschichte der Gonaden und der Geschlechtsgänge. in C.Overziers "Die Intersexualität" Thieme Stuttgart 1961, 1-17.

54 Wiedemann, H.R., Tolksdorf, M. und Roatowski, H. : Geschlechtsbestimmung aus dem Blutbilde.
Münch.med.Wschr. 33, 1090 - 1093 und 34, 1108 - 1112 (1956).

55 Witschi, E. : Sex chromatin und sex differentiation in human embryos.
Science 126, 1288 (1957).

Herrn Professor Dr. H.J. Spechter danke ich für die Überlassung des Themas. Für die hilfsbereite Unterstützung und Beratung bin ich Herrn Dr. Ruff zu Dank verpflichtet.

Lebenslauf

Am 24. 11. 1938 wurde ich als Tochter des Gewerbeschulrat Feodor Merkle und seiner Ehefrau Erika, geb. Martin, in Stuttgart geboren. Aufgewachsen bin ich in Tuttlingen. Am 6. März 1959 bestand ich am Tuttlinger Gymnasium die Reifeprüfung. Im Sommersemester 1959 begann ich an der Universität in Tübingen das Studium der Medizin. Am 10. April 1960 legte ich die naturwissenschaftliche Vorprüfung ab. Nach 3 weiteren Semestern in Tübingen erhielt ich am 27. Oktober 1961 das Zeugnis der ärztlichen Vorprüfung. Im Wintersemester 1961/62 studierte ich an der Universität in Zürich. Im Sommersemester 1962 schrieb ich mich an der medizinischen Fakultät der Universität in Kiel ein. Seit dem Wintersemester 1962/63 studierte ich wieder in Tübingen. Im Dezember 1964 legte ich an der Universität in Tübingen das Medizinische Staatsexamen ab.